

УДК 576.8:591.1:59.084

**ОСОБЕННОСТИ СЕРДЕЧНОЙ АКТИВНОСТИ БРЮХОНОГОГО
МОЛЮСКА *LITTORINA LITTOREA* L., 1758 ПРИ ЗАРАЖЕНИИ
ПАРТЕНИТАМИ *HIMASTHLA ELONGATA* (MEHLIS, 1831)
(TREMATODA: ECHINOSTOMATIDAE)**

© И. Н. Бахмет,¹ К. Е. Николаев,^{2*} Д. А. Екимов,³ А. А. Ипатов³

¹ Институт биологии КарНЦ РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, 185910

² Зоологический институт РАН
Английский пр., 32, С.-Петербург, 190121

³ Петрозаводский государственный университет, физико-технический факультет
пр. Ленина, 33, Петрозаводск, Республика Карелия, 185000

* E-mail: kirill.nicolaev@gmail.com

Поступила 22.02.2017

В нашей работе был проведен анализ сердечной активности брюхоногого моллюска *Littorina littorea* L., 1758 при заражении партенитами трематоды *Himasthla elongata* (Mehlis, 1831). Отличие сердечной активности зараженных моллюсков проявилось, во-первых, в повышенной амплитуде зарегистрированных плетизмограмм и, во-вторых, в более высоких показателях дисперсии частоты сердечных сокращений. Положительные инотропные изменения работы сердца обсуждаются с точки зрения более высокой вязкости гемолимфы. Второе отличие может указывать на присутствие трематоды как стрессового фактора.

Ключевые слова: *Littorina littorea*, трематоды, *Himasthla elongata*, сердечная активность, частота сердечных сокращений.

Анализу паразит-хозяинных отношений в системе «моллюски—партениты трематод» посвящено значительное число исследований: от классических морфологических до молекулярных. Подавляющее большинство работ выполнено на нескольких модельных объектах — пресноводных Pulmonata из семейств Lymnaeidae и Planorbidae, зараженных партенитами трематод семейств Fasciolidae, Echinostomatidae и Schistosomatidae, зачастую на лабораторных линиях хозяев (Dalton, 1999; Fried, Toledo, 2009; Toledo, Fried, 2011). По другим видам в системе моллюск—партениты имеются лишь отдельные исследования. В особенности это касается морских моллюсков. Основное внимание уделялось биохимическим, иммунным и поведенческим аспектам паразит-хозяинных отношений (Cheng, 1967; Moore, 2002; Loker 2010), в то время как экофизиологические иссле-

дования, направленные на оценку уровня метаболизма зараженных и незараженных моллюсков, весьма немногочисленны. В основном используются методики оценки скорости потребления кислорода (Бергер, 1976; Arakelova et al., 2004), скорости роста (Gorbushin, 1997; Mouritsen et al., 1999), уровня смертности (Nuxham et al., 1993; Jokela et al., 1999). Вышеуказанные подходы связаны с определенными трудностями. Использование первой методики возможно только в лабораторных условиях и связано со значительным стрессом. Другие требуют длительных наблюдений, что не всегда возможно, в особенности в экспедиционных условиях.

В последние десятилетия был разработан и стал активно применяться метод неинвазивной регистрации сердечной активности беспозвоночных (Depledge, Andersen, 1990; Fedotov et al., 2000; Холодкевич и др., 2009). Данная методика была с успехом апробирована в экофизиологических экспериментах при оценке влияния как абиотических, так и биотических факторов на различные виды беспозвоночных (Marshall, McQuaid, 1993, 1994; Santini et al., 1999, 2000; Bakhmet et al., 2005, 2009, и др.). Более того, было доказано наличие положительной корреляции между уровнем потребления кислорода и частотой сердечных сокращений у морских беспозвоночных (Marshall, McQuaid, 1994; Santini et al., 1999). Оценка же сердечной активности у моллюсков, зараженных трематодами и с применением вышеуказанного метода, до настоящего времени не проводилась.

В качестве объекта исследования была выбрана система «брюхоногий моллюск *Littorina littorea* L., 1758 (Caenogastropoda: Littorinidae) — партениты *Himasthla elongata* (Mehlis, 1831) (Trematoda: Echinostomatidae)». *L. littorea* относится к массовым и наиболее изученным представителям литоральной и верхней сублиторальной зон бореальных и субарктических морей. В связи с этим литторины активно используются как модельные объекты для проведения широкого спектра исследований в различных областях морской биологии (Underwood, 1979; Rolan-Alvarez et al., 2015, и др.). Кроме того, данный вид является первым промежуточным хозяином трематоды *H. elongata*, оказывающей существенное воздействие на организм моллюска-хозяина (Lauckner, 1980; Горбушин, 2000). Таким образом, планировалось оценить относительный уровень метаболизма зараженных и свободных от инвазии литторин по уровню сердечной активности моллюсков.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Исследования были проведены на Беломорской биологической станции Зоологического института РАН «мыс Картеш» (губа Чупа, Кандалакшский залив, Белое море). Сбор моллюсков *L. littorea* проводился на литорали в районе биостанции. Собранных моллюсков в течение суток выдерживали в условиях влажной осушки, после чего рассаживали поодиночке в 50-мл пластиковые стаканчики с морской водой и выставляли на солнечный свет на 1 ч. Затем емкости просматривали под стереомикроскопом МБС-10 и отбирали особей, выделивших церкарий *H. elongata*. Всего в работе было использовано 12 зараженных и 12 свободных от инвазии особей *L. littorea* (высота раковины 32.50 ± 1.38 мм, ширина раковины 26.08 ± 1.16 , вес вместе с раковиной 7.7 ± 0.5 г).

Для акклимации к лабораторным условиям моллюсков помещали на 7 дней в 20-литровые аквариумы с морской водой с постоянной продувкой при температуре 9 °С и постоянном освещении (3 люминесцентные лампы мощностью 72 Вт). Кормление не производили.

Перед началом опыта к литторинам на раковины были приклеены датчики CNY70 (Vishnay Semiconductors, PA, USA) в районе, соответствующем расположению перикарда. При этом улитки могли свободно передвигаться по поверхности субстрата. Для регистрации сердечной активности всех моллюсков пересаживали в один 20-литровый аквариум и через 1 ч начинали запись сердечной ритмики, которую осуществляли в течение 3 мин. Затем регистрацию повторяли через 6 и 12 ч. Эксперимент проводили в течение 5 дней. Показатели частоты сердечных сокращений (ЧСС) рассчитывали как среднее значение за один день по трем точкам. Амплитуда сигнала нормировалась по самому крупному показателю у каждой особи. Регистрацию сердечной ритмики литторин осуществляли при помощи программно-аппаратного комплекса «Мидия-7Т», разработанного на физико-техническом факультете Петрозаводского государственного университета (Ипатов и др., 2015). Для подтверждения заражения парthenитами или его отсутствия по окончании эксперимента все моллюски были вскрыты.

Статистическую обработку полученных данных выполняли с использованием программы Statistica 7.0. Сравнение ЧСС зараженных и стерильных моллюсков проводили при помощи *t*-критерия Стьюдента. Сравнение дисперсий показателей ЧСС оценивали по критерию Фишера. Показатели ЧСС и амплитуды на графиках представлены как $M \pm m$, где «М» — средние значения, «m» — средняя арифметическая ошибка.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Прежде всего, отметим высокую межиндивидуальную вариабельность показателей сердечной активности: ЧСС варьировала от 12 до 24 сокр/мин как у зараженных, так и у свободных от инвазии моллюсков. Динамика сердечной ритмики литторин характеризовалась достоверным понижением на 2-е сут опыта с последующим отсутствием изменений (рис. 1). ЧСС

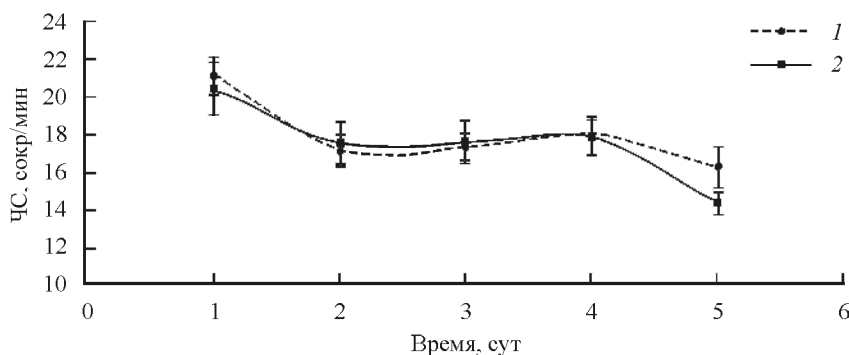


Рис. 1. Изменение ЧСС зараженных (1) и стерильных (2) *L. littorea* в ходе эксперимента.

Fig. 1. The heart rate changes of infested (1) and noninfected (2) *L. littorea* during experiment.

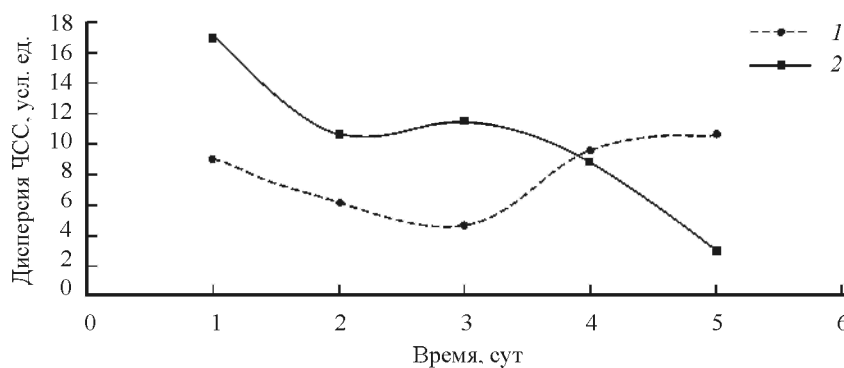


Рис. 2. Изменение дисперсии показателей ЧСС зараженных (1) и стерильных (2) *L. littorea* в ходе эксперимента.

Fig. 2. The variance changes of infested (1) and noninfected (2) *L. littorea* during experiment.

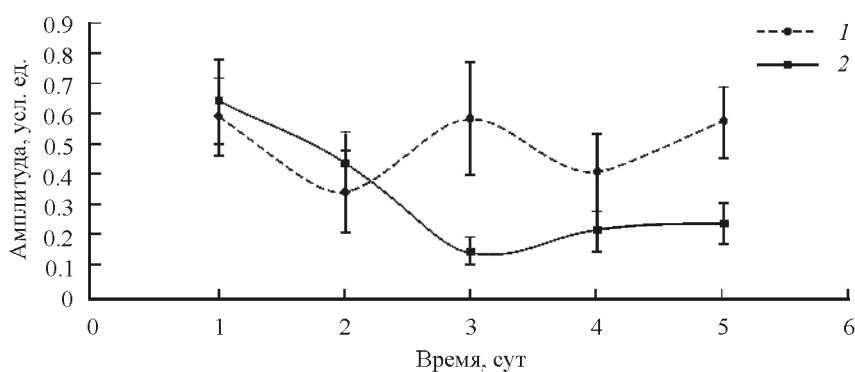


Рис. 3. Изменение амплитуды плетизмограммы зараженных (1) и стерильных (2) *L. littorea* в ходе эксперимента.

Fig. 3. The plethysmograms amplitude changes of infested (1) and noninfected (2) *L. littorea* during experiment.

зараженных и стерильных улиток не различалась между собой. В то же время удалось выявить 2 характерных различия в сердечной активности этих двух групп литторин. Во-первых, дисперсия ЧСС стерильных моллюсков достоверно понижалась на протяжении эксперимента ($F = 5.64$; $N = 7$; $p < 0.05$), тогда как этот же показатель у зараженных литторин изменялся слабо ($F = 0.83$; $N = 7$; $p = 0.65$) (рис. 2). Во-вторых, если в контроле было отмечено падение амплитуды сигнала к концу эксперимента, то для зараженных моллюсков была показана флуктуация мощности сокращений без тенденции к какому-либо изменению (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

Партениты *H. elongata* локализуются в организме моллюска-хозяина между долями гепатопанкреаса, вызывая существенные механические повреждения этого органа: как за счет сдавливания быстро растущими реди-

ями, так и за счет гистиофагии партенит. Кроме того, в работе Lauckner (1980) была отмечена полная деструкция гонады хозяина. Таким образом, присутствие паразита должно влиять на общее состояние организма литторин и, по-видимому, на сердечную активность улиток. К примеру, показано, что у литторин, зараженных партенитами *H. elongata*, повышена концентрация гемоцитов в гемолимфе (хотя и незрелых) и соответственно увеличен гемопоэз (Gorbushin, Iakovleva, 2008). Кроме того, показано, что у литторин, зараженных партенитами *Cryptocotyle lingua*, объем гемолимфы понижен почти вдвое (Jones, Kamel, 1984). Весьма вероятно, что это имеет место и в нашем случае. Таким образом, можно предположить, что именно с этим связана более высокая амплитуда плетизмограмм и соответственно сила сокращения сердца у зараженных улиток, которые вынуждены прокачивать гемолимфу с повышенной плотностью. Положительный инотропный характер изменений сердечной активности у ракообразных (на фоне отсутствия хронотропных изменений) был отмечен при добавлении дофамина (Yamagishi et al., 2004). Возможно, что партениты выделяют какой-либо сходный метаболит, однако это предположение требует дополнительной проверки, так как не исключено, что изменение амплитуды связано с движением тела моллюска и соответственно изменением положения сердца по отношению к датчику.

Что касается ЧСС, то, к примеру, Ли и Ченг (Lee, Cheng, 1970, 1971) показали рост этого показателя у моллюска *Biomphalaria glabrata*, зараженного партенитами *Schistosoma mansoni*. В то же время в работе Фрид и Ким (Fried, Kim, 2003) сердечная активность у того же вида улиток, также зараженных партенитами *S. mansoni*, была пониженной. Таким образом, не было выявлено однозначной реакции сердечной системы на заражение. Следует отметить, что в вышеуказанных работах были использованы экспериментально зараженные моллюски, содержащие группировки партенит возрастом 50—70 дней. В нашей же работе были использованы спонтанно зараженные моллюски, содержащие зрелые группировки партенит *H. elongata*, возраст которых составлял не менее одного года. Кроме того, продолжительность жизни *Biomphalaria glabrata* не превышает 1 года (Toledo, Fried, 2011), в то время как средний срок жизни *L. littorea* составляет более 10 лет (Горбушин, 2000). При этом продолжительность жизни группировки партенит *H. elongata* составляет минимум 5 лет и, вероятнее всего, сопоставима со сроком жизни хозяина (Galaktionov et al., 2015). По-видимому, воздействие долгоживущей группировки партенит *H. elongata* на организм хозяина не столь существенно, как в случае короткоживущей и активно эксплуатирующей ресурсы хозяина группировки партенит *S. mansoni*, что и обуславливает отсутствие различий в ЧСС в нашем случае.

Еще одно доказательство наличия эффекта воздействия паразита на организм хозяина заключается в повышенной дисперсии показателей ЧСС у зараженных моллюсков. Известно, что рост внутрииндивидуальной вариабельности физиологических показателей рассматривается как показатель стресса организма животных (Leung, Forbes, 1996; Sukhotin et al., 2003).

Таким образом, предположение о существенном влиянии трематоды *H. elongata* на сердечную активность литторин получило частичное подтверждение в нашей работе, основанное на существенном разбросе по-

казателей ЧСС зараженных моллюсков. Изменение мощности сигнала плетизмограммы требует дальнейшей проверки с применением долговременной регистрации сердечной активности улиток с параллельным мониторингом поведения животных.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность сотрудникам ББС ЗИН РАН «Картеш» за помощь в сборе материала и постановке эксперимента.

Работа была выполнена при поддержке грантов РФФИ № 12-04-93081-Норв_а и 16-04-00820 А, а также за счет средств федерального бюджета на выполнение государственных заданий № 0221-2014-0005.

Список литературы

- Бергер В. Я. 1976. О воздействии паразитов на систему адаптаций к солености моллюска *Hydrobia ulvae*. Паразитология. 10 (4): 333—337.
- Горбушин А. М. 2000. Сравнительный морфофункциональный анализ взаимоотношений в системе моллюск—трематода. Паразитология. 64 (4): 502—514.
- Ипатов А. А., Бахмет И. Н., Екимов Д. А., Кулдин Н. А. 2015. Автоматическая система раннего оповещения об экологической опасности на водоемах и ее апробация. Труды Карельского научного центра РАН. 12: 76—84.
- Холодkevич С. В., Кузнецова Т. В., Трусевич В. В., Куракин А. С., Иванов А. В. 2009. Особенности движения створок и кардиоактивности двустворчатого моллюска *Mytilus galloprovincialis* при различных стрессовых воздействиях. Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 45 (4): 203—210.
- Arakelova K. S., Chebotareva M. A., Zabelinskii S. A. 2004. Physiology and lipid metabolism of *Littorina saxatilis* infected with trematodes. Diseases of Aquatic Organisms. 60 (3): 223—231.
- Bakhmet I. N., Berger V. Ja., Khalaman V. V. 2005. The effect of salinity change on the heart rate of *Mytilus edulis* specimens from different ecological zones. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 318(2): 121—126.
- Bakhmet I. N., Fokina N. N., Nefedova Z. A., Nemova N. N. 2009. Physiological—biochemical properties of blue mussel *Mytilus edulis* adaptation to oil contamination. Environmental Monitoring and Assessment. 155 (1): 581—591.
- Cheng T. C. 1967. Marine molluscs as hosts for symbioses, with a review of known parasites of commercially important species. Advances in Marine Biology. 5: 1—424.
- Dalton J. P. (ed.). 1999. Fasciolosis. CAB International Publishing, Wallingford, Oxon. 544 p.
- Depledge M. H., Andersen B. B. 1990. A computer-aided physiological monitoring system for continuous, long-term recording of cardiac activity in selected invertebrates. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology. 96 (4): 474—477.
- Fedotov V. P., Kholodkevich S. V., Storchilo A. G. 2000. Study of contractile activity of the crayfish heart with the aid of a new non-invasive technique. Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology. 36 (3): 288—293.
- Fried B., Kim Y. 2003. Effects of larval *Echinostoma caproni* and *Schistosoma mansoni* infection on the heart rate of *Biomphalaria glabrata* snails. Veliger. 46 (2): 182—183.
- Fried B., Toledo R. (eds) 2009. The biology of echinostomes: from the molecule to the community Springer Science+Business Media LLC. 333 p.
- Galaktionov K. V., Podvynaznaya I. M., Nikolaev K. E., Levakin I. A. 2015. Self-sustaining infrapopulation or colony? Radial clonal groups of *Himasthla elongata* (Mehlis, 1831) (Trematoda: Echinostomatidae) in *Littorina littorea* (Linnaeus) (Gastro-

- poda: Littorinidae) do not support the concept of eusocial colonies in trematodes. *Folia Parasitologica*. 62: 067.
- Gorbushin A. M. 1997. Field evidence of trematode-induced gigantism in *Hydrobia* spp. (Gastropoda: Prosobranchia). *Journal of Marine Biological Association UK*. 77 (3): 785—800.
- Gorbushin A. M., Iakovleva N. V. 2008. The enigma of the haemogram «left-shift» in periwinkles infected with trematodes. *Fish et Shellfish Immunology*. 24 (6): 745—751.
- Huxham M., Raffaelli D., Pike A. W. 1993. The influence of *Cryptocotyle lingua* (Digenea: Platyhelminthes) infections on the survival and fecundity of *Littorina littorea* (Gastropoda: Prosobranchia); an ecological approach. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 168 (2): 223—238.
- Jokela J., Lively C. M., Taskinen J., Peters A. D. 1999. Effect of starvation on parasite-induced mortality in a freshwater snail (*Potamopyrgus antipodarum*). *Oecologia*. 119 (3): 320—325.
- Jones H. D., Kamel E. G. 1984. The effect of *Cryptocotyle lingua* infection on the blood volume of *Littorina littorea*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*. 79 (33): 493—494.
- Lauckner G. 1980. Diseases of Mollusca: Gastropoda. In: Kinne O. (ed.) *Diseases of marine animals*. Vol. 1 Biologisches Anstalt Helgoland, Hamburg. 311—424.
- Lee F. O., Cheng T. C. 1970. Increased heart rate in *Biomphalaria glabrata* parasitized by *Schistosoma mansoni*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 16 (1): 148—149.
- Lee F. O., Cheng T. C. 1971. *Schistosoma mansoni* infection in *Biomphalaria glabrata*: alterations in heart rate and thermal tolerance in the host. *Journal of Invertebrate Pathology*. 18 (3): 412—418.
- Leung B., Forbes M. 1996. Fluctuating asymmetry in relation to stress and fitness: effect of trait type as revealed by meta-analysis. *Ecoscience*. 3 (4): 400—413.
- Loker E. S. 2010. Gastropod immunobiology. In: Soderhall K. (ed.) *Invertebrate Immunity*. Austin: Landes Bioscience and Springer Science+Business Media. 17—43.
- Marshall D. J., McQuaid C. D. 1993. Differential physiological and behavioural responses of the intertidal mussels, *Choromytilus meridionalis* (Kr.) and *Perna perna* L., to exposure to hypoxia and air: a basis for spatial separation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 171 (2): 225—237.
- Marshall D. J., McQuaid C. D. 1994. Seasonal and diel variations of in situ heart rate of the intertidal limpet *Siphonaria oculus* Kr. (Pulmonata). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 179 (1): 1—9.
- Moore J. 2002. *Parasites and the behavior of animals*. Oxford Univ. Press, Oxford. 315 p.
- Mouritsen K. N., Gorbushin A., Jensen K. T. 1999. Influence of trematode infections on in situ growth rates of *Littorina littorea*. *Journal of Marine Biological Association UK*. 79 (3): 425—430.
- Rolan-Alvarez E., Austin C. J., Boulding E. G. 2015. The contribution of the genus *Littorina* to the field of evolutionary ecology. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*. 53: 157—214.
- Santini G., De Pirro M., Chelazzi G. 1999. In situ and laboratory assessment of heart rate in a Mediterranean limpet using a noninvasive technique. *Physiological and Biochemical Zoology*. 72 (2): 198—204.
- Santini G., Williams G. A., Chelazzi G. 2000. Assessment of factors affecting heart rate of the limpet *Patella vulgata* on the natural shore. *Marine Biology*. 137 (2): 291—296.
- Sukhotin A. A., Lajus D. L., Lesin P. A. 2003. Influence of age and size on pumping activity and stress resistance in the marine bivalve *Mytilus edulis* L. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 284 (1-2): 129—144.
- Toledo R., Fried B. (eds) 2011. *Biomphalaria Snails and Larval Trematodes*. Springer, New York. 244 p.
- Underwood A. J. 1979. The ecology of intertidal Gastropods. *Advanced in Marine Biology*. 16: 111—210.
- Yamagishi H., Takano S., Tanaka K. 2004. Dual effects of dopamine on the adult heart of the isopod crustacean *Ligia exotica*. *Zoological Science*. 21 (1): 15—21.

THE CHARACTERISTICS OF GASTROPOD *LITTORINA LITTOREA* L., 1758
CARDIAC ACTIVITY UNDER EFFECT OF *HIMASTHLA ELONGATA*
(MEHLIS, 1831) (TREMATODA: ECHINOSTOMATIDAE) INFESTATION

I. N. Bakhmet, K. E. Nikolaev, D. A. Ekimov, A. A. Ipatov

Key words: *Littorina littorea*, Trematoda, *Himasthla elongata*, cardiac activity, heart rate.

SUMMARY

The analysis of the common periwinkle *Littorina littorea* L., 1758 cardiac activity under infestation of trematode parthenitas *Himasthla elongata* (Mehlis, 1831) was performed. The differences in the heart function of infected mollusks included, on the first hand, a higher amplitude of plethysmograms, and, on the second hand, high-grade variance of heart rate. The positive inotropic effect of cardiac activity in infected *L. littorea* is discussed from the point of view of the higher viscosity of the hemolymph. The second difference may point to trematodes as a stress-factor.